

M. Burdelski

Pädiatrische Gastroenterologie und Hepatologie, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Gallensäuren- und Gallelipidtransportdefekte

Zusammenfassung

Gallensäuren- und Gallelipidtransportdefekte stellen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen dar, die sich durch Familiarität, frühen Beginn mit schneller Progression zu Leberzirrhose bei fehlenden Gallengangsanomalien auszeichnen. Man spricht daher von progressiver familiärer intrahepatischer Cholestase (PFIC). Heute werden 3 verschiedene Typen unterschieden. Typ 1 entspricht der unter Morbus Byler bekannten Erkrankung. Sie wird bei Nachkommen der Byler-Familie, Mitgliedern der Amish-Sekte, beobachtet. Die Charakteristika sind neben der Familiarität hohe Gallensäurenkonzentrationen bei niedriger katalytischer Aktivität der γ GT im Serum. Zusätzlich ist eine offenbar milde Verlaufsform dieser Erkrankung, die benigne rekurrende intrahepatische Cholestase (BRIC), bekannt. Klinisch-chemisch nicht vom Typ 1 zu unterscheiden ist der Typ PFIC-2, der zuerst bei arabischen Patienten beschrieben wurde. Man spricht vom Byler-Syndrom. Der Typ PFIC-3 weist bei ebenfalls bestehender Familiarität dagegen eine hohe katalytische Aktivität der γ GT im Serum bei hoher Serumgallensäurenkonzentration auf. Auch bei dieser Erkrankung ist eine milde, oft erst im Erwachsenenalter manifeste Variante identifiziert worden: die Schwangerschaftscholestase mit/ohne atypische Gallenkonkrementbildung. Die Therapie zielt bei Typ 1 und 2 auf eine frühe partielle biliäre Diversion als palliative chirurgische Therapie. Bei Versagen dieser Behandlung und bei bereits manifester Zirrhose ist eine Lebertransplantation erforderlich. Beim Typ 3 sprechen einige Patienten auf eine Behandlung mit Ursodesoxycholsäure an. Bei den therapierefraktären Patienten wird ebenfalls eine Lebertransplantation erforderlich.

Schlüsselwörter

Progressive familiäre intrahepatische Cholestase Typ 1–3 · Morbus Byler · Benigne rekurrende intrahepatische Cholestase · Gallensäurentransportdefekt · Schwangerschaftscholestase

In den letzten 5 Jahren konnten spezifische Transporterdefekte für Gallensäuren und Gallelipide identifiziert werden, die zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie der Cholestase führten. Ursprünglich verstand man unter Morbus Byler eine Erkrankung von Nachkommen der Byler-Familie, die zur Amish-Sekte gehörte [4].

„Familiarität ohne erkennbare metabolische oder anatomische Ursache“

Später wurden auch außerhalb der Byler-Familie Patienten mit gleichem Krankheitsbild und –verlauf beschrieben. Diesen beiden Erkrankungen waren eine hohe Gallensäurenkonzentration im Serum bei gleichzeitig niedrignormaler katalytischer Serumkonzentration der γ GT gemeinsam [12]. Schließlich konnte man eine dritte Gruppe von Patienten ausmachen, deren Charakteristika neben der Familiarität eine zwar auch erhöhte Gallensäurenkonzentration im Serum bei aber erhöhter katalytischer Konzentration der γ GT im Serum waren [11].

Der gemeinsame Nenner aller drei Varianten war die Familiarität ohne er-

kennbare metabolische oder anatomische Ursache. Der Verlauf war progressiv mit chronischem Leberversagen und Tod spätestens im Adoleszentenalter. Diese Beobachtungen sprachen für eine autosomal-rezessive Erkrankung.

Die in den letzten 5 Jahren erreichten Fortschritte in der Diagnose und im Verständnis der Cholestase sollen hier dargestellt werden.

PFIC-1

Die initiale Definition dieser Erkrankung basierte auf dem Nachweis der für die Höhe der Gallensäurenkonzentration im Serum disproportional niedrigen γ -Glutamyl-Transpeptidase im Serum und einem schweren Juckreiz (Tabelle 1, 2). Wegweisend aus heutiger Sicht war eine auffällig niedrige Konzentration der Gallensäuren in der Galle. Morphologisch zeichnete sich diese Erkrankung durch eine mäßige intrazelluläre Cholestase mit Riesenzellbildung aus (Abb. 2). Elektronenmikroskopisch wurden eine granuläre Galle mit Dilatation der Gallekanälchen und Verlust der Mikrovilli gefunden [1, 2] (Tabelle 1). Durch molekulargenetische Untersuchungen konnte eine Mutation auf dem Chromosom 18 q21–22 nachgewiesen werden, dem familiären intrahepatischen Cholestase (FIC-1)-Locus [1, 2]. Man nimmt an, dass das defekte FIC-1-Gen einen Defekt in einer

Prof. Dr. M. Burdelski

Pädiatrische Gastroenterologie und Hepatologie, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg
E-Mail: burdelski@uke.uni-hamburg.de

M. Burdelski

Bile acid and bile lipid transporter defects

Abstract

Bile acid- and bile lipid transporter defects are a heterogenous group of disorders characterized by familiarity, early onset with rapid progression to chronic end stage liver disease without bile duct anomalies. They are so called progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC). Today 3 types are known. Type 1 corresponds to "Byler disease" and is found in Amish people. It is characterized by high serum concentration of bile acids but low catalytic serum concentration of γ GT. There is one mild variant of this disorder, the benign recurrent intrahepatic cholestasis (BRIC). PFIC-2 has the same clinical chemical findings and is observed in non-Amish people. It is called Byler syndrome. PFIC-3 is characterized by familiarity, high serum bile acids and in contrast to type 1 and 2 high catalytic serum concentration of γ GT. Again, a mild variant has been found, the cholestasis of pregnancy. Therapeutic options are partial biliary diversion in PFIC-1 and 2 in the early stage. If this surgical therapy fails or if there is already a cirrhosis, liver transplantation is needed. Some patients with PFIC-3 respond to ursodesoxycholic acid therapy, the rest needs liver transplantation as well.

Keywords

Progressive familial intrahepatic cholestasis type 1–3 · Byler disease · Benign recurrent intrahepatic cholestasis · Bile acid-transporter defects · Cholestasis of pregnancy

Tabelle 1

Synopsis der Symptome und Befunde bei PFIC 1–3. γ GT γ -Glutamyltranspeptidase, *n* Normalwert, *h* erhöhter Wert

Nomenklatur	γ GT	SGS	Pruritus	Histologie
PFIC-1	n	h	+	Granuläre Galle (EM) Riesenzellhepatitis
PFIC-2	n	h	+	Amorphe Galle (EM) Riesenzellhepatitis
PFIC-3	h	h	+	Duktiläre Proliferation Nicht-eitrige Cholangitis

Tabelle 2

Vergleich von klinischen Auffälligkeiten zur Zuordnung von PFIC 1–3 und ihren Minorformen

Erkrankung	Symptom
PFIC-1	Diarrhö, Prätzhände, Minderwuchs
BRIC	Anfallsweiser Verlauf, kein progredienter Leberschaden
PFIC-2	Minderwuchs, Prätzhände
PFIC-3	Keine Auffälligkeiten
PFIC-3 des Erwachsenen	Atypische Cholelithiasis des Erwachsenen, Schwangerschaftscholestase

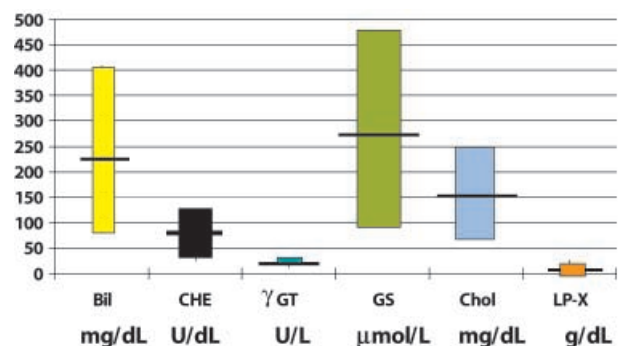
P-Typ-ATPase verursacht, deren Funktion der Transport von Aminophospholipiden vom äußeren zum inneren Blatt der Plasmamembran ist [2]. Bei Patienten mit BRIC liegt eine nur partielle Störung dieses Transporters vor. Die Patienten sind deshalb davor geschützt, eine progressive Erkrankung bis hin zur Zirrhose und die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms zu erleiden, die bei den Patienten mit PFIC-1 beobachtet werden kann [1, 6].

PFIC-2

Nachdem bei 6 konsanguinen arabischen Familien ein Defekt auf dem Chromosom 18q21–22 ausgeschlossen

werden konnte, wurde stattdessen ein Defekt auf dem Chromosom 2q14 nachgewiesen [9]. Klinisch-chemisch bestehen im Serum und in der Galle keine Unterschiede zum Typ 1 [6, 12] (Abb. 1). Die klinisch-chemischen Befunde bei PFIC-2 sind weiterhin charakterisiert durch niedriges Cholesterin und nicht nachweisbares LP-X (Abb. 1). Auch lichtmikroskopisch besteht kein Unterschied zum Typ 1 (Abb. 2). Lediglich elektronenmikroskopisch wurde ein Unterschied beschrieben: Die Galle ist amorph oder feinlamellär [1] (Tabelle 1). Wegen des bekannten Befundes der niedrigen Gallensäurenkonzentration in der Galle wurde nach einem Defekt in einem Gallensäuretransporter gesucht.

Abb. 1 ► Klinisch-chemische Befunde bei Patienten mit PFIC-2 ($n=8$), dargestellt als Median und 16–84%. *Bil* Serumbilirubin, *CHE* Pseudocholinesterase, γ GT γ -Glutamyltranspeptidase, *GS* Gallensäuren im Serum, *Chol* Cholesterin im Serum, *LP-X* Lipoprotein-X. Die Einheiten sind gegenüber den normalerweise angegebenen modifiziert, um sie besser darstellen zu können



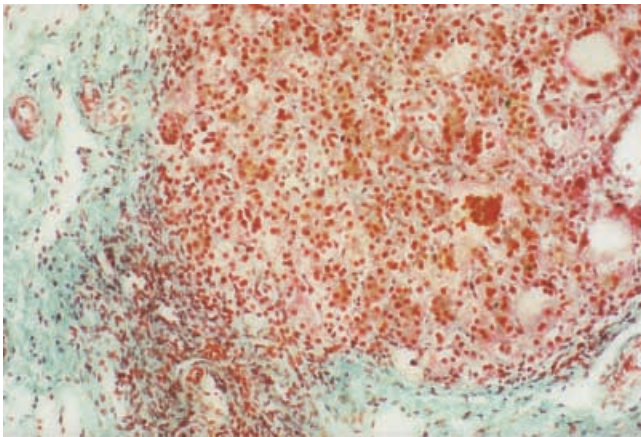


Abb.2 ◀ **Histologischer Befund bei einem Patienten mit PFIC-2. Vergr. 50:1, Färbung Masson-Goldner. Komplett Zirrhose mit ausgeprägter Riesenzellhepatitis und intrazelluläre Cholestase**

Tatsächlich konnte ein Defekt im Sister-P-Glykoprotein nachgewiesen werden. Nach neuester Nomenklatur spricht man von einem Defekt der Gallensäurenexportpumpe (BSEP). Dieser Transporter ist für den Export der Cholsäure und ihrer Konjugate verantwortlich. Mit diesem Befund kann nun die klinisch-chemische Besonderheit dieser Cholestaseform erklärt werden: Die γ GT kann im Serum nur ansteigen, wenn sie durch Gallensäuren in der Galle aus der Canaliculusmembran gelöst wird [7].

Genotyp-Phänotyp-Analysen wurden bisher bei 19 Patienten vorgenommen [6]. Es wurden 9 Mutationen bei 10 Patienten beobachtet. Dabei handelte es sich um 1 Deletion, 2 Nonsense-Mutationen, 5 Missense-Mutationen und 2 Compound-Heterozygoten. Bei 9 der untersuchten Patienten konnten keine Mutationen mit der SSCP-Technik nachgewiesen werden

PFIC-3

Innerhalb der Patienten mit einer progressiven familiären Cholestase zeichnet sich eine Untergruppe mit erhöhter γ GT aus. auch fehlt ihr die charakteristische Erniedrigung des Serumcholesterins (Abb. 3). Bei ihr ist zusätzlich LP-X nachweisbar (Tabelle 1). In der Galle finden sich keine Phospholipide [12]. Die Leberhistologie zeigt eine nicht-eitrigre Cholangitis, duktiläre Proliferationen sowie eine Entzündung und Fibrose der Portalfelder (Abb. 4). Die molekulargenetische Diagnostik wies ein defektes Multiple-Drug-Resistant-3-Gen auf. Das von diesem auf dem Chromosom 7q21 lokalisierten Gen kodierte Protein ist eine Phosphoflippase, die den Transport von Phosphatidylcholin aus dem Hepa-

tozyten in den Canaliculus ermöglicht [11]. Das beim Menschen vorkommende MDR-3-Gen entspricht dem *mdr2*-Gen einer Knockout-Maus. Kinder mit einem MDR-3-Defekt weisen wie diese Mäuse eine erhöhte Gallensäure-/Phospholipidratio auf. Damit fehlt ein Schutzmechanismus, der die Gallengänge vor den polaren Cholaten schützt. Eine milde Verlaufsform mit Manifestation im Erwachsenenalter stellt die Schwangerschaftscholestase mit oder ohne atypische Gallensteinbildung dar [5, 8].

Bei dieser Erkrankung sind bisher 31 Patienten molekulargenetisch analysiert worden [5]. Es fanden sich 16 verschiedene Mutationen bei 17 Patienten. Davon waren 4 Verschiebungen des Leserahmens, 2 Nonsense-Mutationen und 10 Missense-Mutationen. 5 Patienten wiesen zusätzliche Missense-Mutationen im Sinne eines Polymorphismus auf.

Differenzialdiagnose

Familiäre Formen der Cholestase werden außer bei den PFIC-Typen 1–3 auch bei Patienten mit einem *Gallensäuresynthesedefekt* beobachtet. Im Gegensatz zu den Formen der PFIC-1–3 zeichnen sich aber Patienten mit dieser Erkrankung durch niedrige Serumgallensäurenkonzentrationen und fehlenden Juckreiz aus. Weiterhin können Patienten mit einem *Atmungskettendefekt* durch den dadurch verursachten Mangel an ATP eine sekundäre Gallensäuretransportstörung aufweisen. Sie sind dann nicht von einer frühen und rapid progressiven Form der PFIC-2 zu unterscheiden.

Abb.3 ▶ **Klinisch-chemische Befunde bei PFIC-3 (n=4), dargestellt als Median und 16–84%. Abkürzungen siehe Abb. 1**

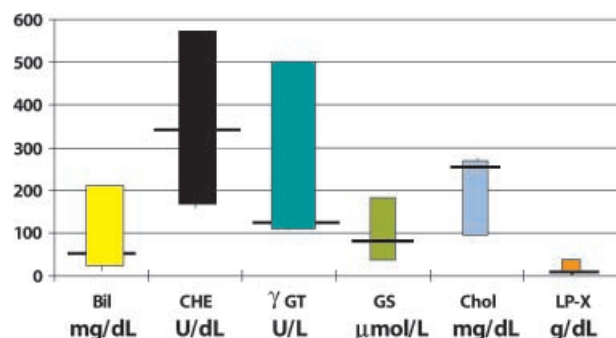
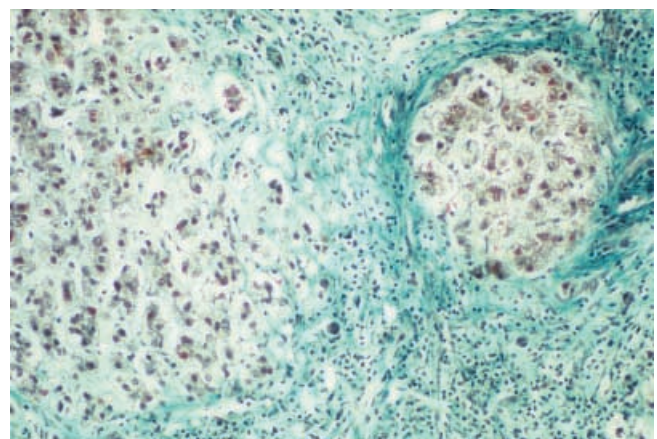


Abb.4 ▶ **Histologischer Befund bei einem Patienten mit PFIC-3. Vergr. 50:1, Färbung Masson-Goldner. Komplett Zirrhose mit duktilärer Proliferation im Portalfeld und nicht-eitrigre Cholangitis**



Hier steht eine Anzeige
This is an advertisement



Springer

(175 x 240 mm)

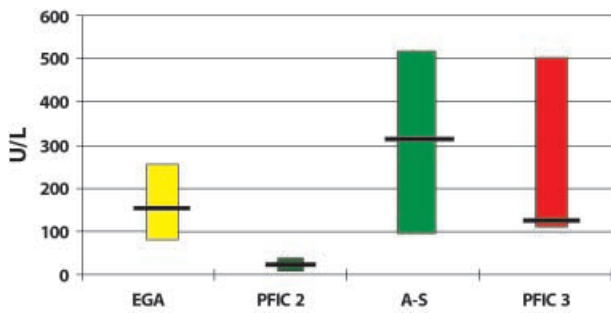


Abb. 5 ◀ Vergleich der γ GT bei verschiedenen cholestatischen Erkrankungen des Kindesalters. EBA Extrahepatische Gallengangs- atresie, A-S Alagille-Syndrom (EBA n=31, PFIC-2 n=8, A-S n=16, PFIC-3 n=4)

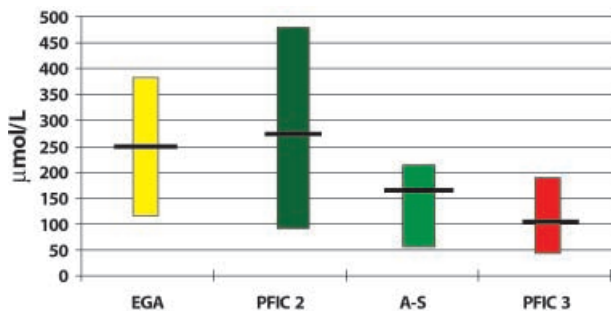


Abb. 6 ◀ Vergleich der Gallensäurenkonzentration im Serum bei verschiedenen cholestatischen Erkrankungen des Kindesalters, n siehe Abb. 5)

Die Differenzialdiagnose des Typs PFIC-1 und -2 zu den häufigeren cholestatischen Lebererkrankungen im Säuglings- und Kindesalter wie extrahepatische Gallengangsatresie und Alagille-Syndrom ist am besten durch die Bestimmung der γ GT und weniger durch die Bestimmung der Gesamtgallensäurenkonzentration im Serum zu erreichen. (Abb. 4, 5 und 6).

Es bestehen weiterhin mehrere PFIC-ähnliche Erkrankungen, die als Nordamerikanische Cholestase des Kleinkindes, die Cholestase der Grönland-Eskimos und die Cholestase des Norwegischen Kleinkindes bezeichnet werden. Sie sind am ehesten der benignen rekurrenden intrahepatischen Cholestase zuzuordnen.

Therapie

Bei den PFIC-Formen 1 und 2 kann heute der Versuch einer partiellen biliären Diversion unternommen werden [12]. Bei dieser Operation wird der Fundus der Gallenblase mit einer etwa 10–15 cm langen isolierten Jejunumschlinge aus der Bauchwand ausgeleitet. Es handelt sich demnach um eine Cholezystoenterokutanostomie, über die etwa 50% der produzierten Galle aus dem enterohepatischen Kreislauf drainiert werden. Bei bereits fibrotischen oder gar zirrhotisch umgebauten Lebern ist dieses Vorgehen kontraindiziert, da nicht

ersetzbare Mengen gallig-wässrigen Sekrets über das Stoma verlorengehen können. Bei rechtzeitig operierten Patienten kommt es innerhalb von Tagen zu einem Nachlassen des Juckreizes und einer Normalisierung der Serumgallensäurenkonzentration sowie der Serumenzyme und des Bilirubins (Tabelle 3). Die klinische Besserung ist außerdem daran zu erkennen, dass die hellgrüne, wässrige Galle von einer viskösen, gelb-braunen Galle abgelöst wird. Dieser Behandlungserfolg bleibt nach eigenen Erfahrungen langfristig bei 90% der so behandelten Patienten bestehen. Bei den verbleibenden 10% und den nicht mehr indizierten Patien-

ten kann nur die Lebertransplantation den sonst infausten Verlauf der Erkrankung abwenden. Die Ergebnisse der Lebertransplantation bei dieser Indikation werden mit 80–90% Überleben angegeben [3]. Bei einem Patienten mit PFIC-2 wurde in der heterozygoten Leber nach Lebendspende durch den Vater ein Rezidiv beobachtet [10]. Eine Behandlung der Patienten mit Ursodesoxycholsäure ist wenig erfolgversprechend [6].

„Partielle biliäre Diversion bei PFIC-1 und -2“

Bei Patienten mit einer benignen rekurrenden intrahepatischen Cholestase ist weder ein auslösendes Moment noch eine wirksame Therapie bekannt. Bei einem eigenen Patienten konnten durch eine partielle biliäre Diversion die Zeitspanne zwischen zwei Episoden und die Intensität des Pruritus positiv beeinflusst werden.

Die partielle biliäre Diversion bringt bei Patienten mit PFIC-3 keinen Erfolg, die meisten Patienten werden erst im Stadium der Zirrhose entdeckt. Bei noch nicht zirrhotischen Patienten kann aber im Gegensatz zu denen mit PFIC-1 oder -2 eine Behandlung mit Ursodesoxycholsäure eine Besserung bzw. einen Stillstand der Veränderungen bewirken [5]. Bei den restlichen Patienten ist ebenfalls eine Lebertransplantation anzustreben. Die Ergebnisse der Lebertransplantation sind bei dieser Indikation ebenfalls mit etwa 80–90% beschrieben [3].

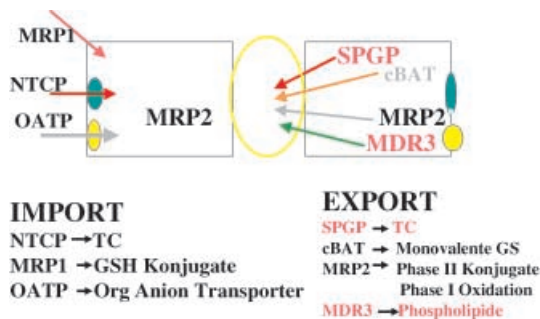


Abb. 7 ▲ Das Import-Export-System der Hepatozyten. NTCP Natriumtaurocholat transportierendes Protein, TC Taurocholat, MRP 1 Multidrug-resistent-Protein 1, GSH Glutathion-S-Hydrogen, OATP organische Anionen transportierendes Protein, SPGP Sister-P-Glykoprotein, TC Taurocholat, cBAT Bile-acid-Transporter, MRP2 Multidrug-resistent-Protein 2, MDR3 Multidrug-resistent-Protein 3

Tabelle 3

Klinisch-chemische Befunde im Serum und in der Galle bei Patienten mit PFIC-2 vor und nach partieller biliärer Diversion (n=4). SGS Gallensäurenkonzentration im Serum, LP-X Lipoprotein-X, Chol Serumcholesterin

	Präoperativ	Postoperativ
BA (µmol/l)	380±27	11±24
γGT (U/l)	12±3	10±7
LP-X (g/l)	0,01±0,03	0,05±0,04
Chol (mg/dl)	149±47	103±8,4

Diskussion

Die progressiven familiären intrahepatischen Cholestasen konnten als Galletransporterdefekte identifiziert werden. Der Nachweis der Defekte auf dem FIC-1-Gen, dem BSEP-Gen und dem MDR-3-Gen haben wesentlich zum Verständnis der bei der Cholestase gestörten Transportvorgänge beigetragen. Beim Typ PFIC-1 und -2 können die Hauptbestandteile der Galle, die Cholsäure bzw. ihre Konjugate, nicht in die Gallekanälchen exportiert werden (Abb. 7). Die dadurch ausgelöste toxische Schädigung der Hepatozyten führt ohne primäre Läsion an den Gallenwegen zu einer am ehesten toxischen Schädigung, die sich zu Riesenzellhepatitis und Zirrhose entwickelt. Der bei diesen Patienten zu beobachtende charakteristische Normalwert der γGT ist auf das Fehlen der Gallensäuren in der Galle zurückzuführen. Der ATP-abhängige Transporter kann aber auch bei einem Leberversagen anderer Genese sekundär geschädigt werden: Eine obstruktive Cholestase wie z. B. die extrahepatische Gallengangsatriesie weist ante finem ebenfalls eine „Normalisierung“ der γGT als signum mali ominis auf. Beim akuten Leberversagen fehlt ebenfalls in der Regel die Erhöhung der γGT.

Die Besserung der Leberschädigung durch die partielle biliäre Diversion kann nur über das Anschalten von Ersatztransportmechanismen erklärt werden, da ein genetisch determinierter Transporterdefekt nicht abgestellt werden kann.

Da die Darstellung aller Galletransporter aber bisher nur auf der mRNA-Ebe-

ne möglich ist, werden derzeit noch anstehende Untersuchungen auf Proteinebene abzuwarten sein, die klären müssen, welche Transporter Ersatzfunktionen übernehmen können.

Die bei einigen Patienten mit PFIC-1 und auch -2 zu beobachtende Diarrhö bleibt auch nach einer erfolgreichen Lebertransplantation bestehen. Dies muss als Ausdruck einer im Ileum bestehenden Transportstörung erklärt werden. Das FIC-1-Gen wird entsprechend neben der Leber auch im Intestinaltrakt und zusätzlich im Pankreas exprimiert [6, 9].

Die progressive familiäre intrahepatische Cholestase vom Typ 3 weist einen anderen Schädigungsmechanismus auf. Durch den fehlenden Schutz der nicht in den Gallekanal sezernierbaren Phospholipide (Abb. 7) sind die Gallenepithelien den aggressiven Gallensäuren ausgesetzt. Der primäre Schaden wird bei dieser Erkrankung am Gallengang in Form einer nicht-eitrigen Entzündung mit sekundärer entzündlicher Schädigung des Portalfeldes manifest. Ob experimentelle Ansätze zur Korrektur der Phospholipidausscheidung möglich und auf den Menschen übertragbar sind und damit die Lebertransplantation erübrigt werden kann, bleibt abzuwarten.

Vor diesem Hintergrund der genetisch bedingten Transporterdefekte können nun die Mechanismen der Cholestase auch bei anderen Erkrankungen besser verstanden werden. Die für das Kindesalter typischen cholestatischen Lebererkrankungen sind zu verstehen, wenn das Gleichgewicht zwischen Import- und Exporttransportern gestört ist. Die Herunterregulation des NTCP-Transporters bei schwerer Cholestase ist bekannt [7]. Allerdings bietet die Bestimmung der Expression der Transporter

ter auf mRNA-Ebene noch nicht die erforderliche Sicherheit. Erst wenn Befunde auf Proteinebene vorliegen, kann man eine neue Sicht der Pathophysiologie der Cholestase erreichen.

Literatur

1. Bull LN, Carlton VEH, Stricker N et al. (1997) Genetic and morphological findings in progressive familial intrahepatic cholestasis (Byler disease [PFIC-1] and Byler syndrome: evidence for heterogeneity). *Hepatology* 26: 155–164
2. Bull LN, Eick MJT van, Pawlikowska L (1998) A gene encoding a P-type ATPase mutated in two forms of hereditary cholestasis. *Nat Genet* 18: 219–224
3. Burdelski M, Rogiers X (1999) Liver transplantation in metabolic disorders. *Acta Gastroenterol Belg* 62: 300–305
4. Clayton RJ, Iber FL, Ruebner BH, McKusick VA (1965) Byler disease: fatal familial intrahepatic cholestasis in an Amish kindred. *Am J Dis Child* 117: 112–124
5. Jacquemin E, DEVree ML, Cresteil D et al. (2001) The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood. *Gastroenterology* 120: 1448–1458
6. Jansen PLM, Strautnieks SS, Jacquemin E et al. (1999) Hepatocanalicular bile salt export pump deficiency in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 117: 1370–1379
7. Müller M, Jansen PLM (1997) Molecular aspects of hepatobiliary transport. *Am J Physiol* 272: 1285–1303
8. Rosmorduc O, Hermelin B, Poupon R (2001) MDR3 gene defect in adults with symptomatic intrahepatic and gallbladder cholelithiasis. *Gastroenterology* 120: 1459–1467
9. Strautnieks SS, Kagalwalla AF, Tanner MS, Gardiner RM, Thompson RJ (1996) Locus heterogeneity in progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Med Genet* 33: 833–836
10. Sturm E, Latta A, Drews D et al. (1995) Case report. Recurrence of progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) in a living related liver transplant. *Hepatology* 22: 207A
11. Vree JML De, Jacquemin E, Sturm E et al. (1998) Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 282–287
12. Whittington PF, Freese DK, Sharp HL, Alonso EM, schwarzenberg SJ, Sharp HL (1994) Clinical and biochemical findings in progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 18: 134–141